

描述: 该制品 4x 浓度的全预混液, 可直接用于冻干实验, 无需任何其它辅助试剂。预混液包含反应 Buffer、dNTP、Mg²⁺、荧光染料、HotStart Bst4.2 聚合酶、海藻糖、甘露醇等稳定剂。该制品是 HaiGene 精心研制的高性能的 LAMP 扩增用试剂, 通用于 DNA 或 RNA 的靶标检测。

制品性能: (1) HotStart Bst 4.2 包含热启动 Aptamer, 该配体确保酶在 <30°C 时, 酶活封闭效率 >90%, 在 >60°C 时 1min 内完全释放酶活。该特性利于室温建立反应体系, 并大幅降低了低温条件下的非特异扩增; (2) 反应温度提升到 70°C, 大幅降低引物 Dimer 的形成, 提高扩增特异性, 并使得粗样品核酸释放更加充分; (3) 包含 Helicaser, 因此, 允许在不使用 F3/B3 引物的情况下进行 eLAMP 扩增 (easy LAMP), 并允许 FIP/BIP 的引物用量降低一倍。这将进一步降低非特异扩增, 并使得扩增均一性大幅提升。(4) 该制品直接用于冻干球或冻管实验, 无需任何其它辅助试剂, 因此, 无论是科研或生产, 均可以依次试剂为基础进行冻干制品研发、生产于一体流程化操作。

组分

| 名称 | 100Tx20μl | 500Tx20μl |
|--------------------|-----------|-----------|
| 4xBst 4.2 Fluo Mix | 500 μl | 500 μlx5 |
| 10xGuHCl | 1.5 ml | 1.5 ml |

注意事项:

- (1) 长期保存请置于 -20°C 以下 (24 个月有效); 通常在室温 28°C 条件下 3~5min 即可融化, 反复冻融 20 次不影响性能。
- (2) 1xBst 4.2 Fluo Mix 含有 0.32U/μl 的 HotStart Bst 4.2 聚合酶, SYBR Green。10xGuHCl 为 500 mM 浓度。
- (3) 制品中含有荧光染料 (SYBR Green 荧光通道), 需避光保存。

典型的 LAMP 反应

1. 10xLAMP Primer Mix 的准备

| | 10x 标准 LAMP | 10xeLAMP | 1x |
|---------|---------------|---------------|-----------------|
| FIP/BIP | 10-16 μM each | 10-16 μM each | 1-1.6 μM each |
| LF/LB | 4~8 μM each | 4~8 μM each | 0.4~0.8 μM each |
| F3/B3 | 2 μM each | 非必须 | 0.2 μM each |

注意: eLAMP (easy LAMP) 为去除 F3/B3 引物的方法, 为 Bst4.2 系列专用的使用策略, 对于大多数引物组, 在 Helicaser 的加持下, 扩增速度几乎不受影响。

2. 配制 LAMP 反应体系

| | |
|--------------------------|-------|
| 4xBst 4.2 Fluo Mix | 5 μl |
| 10xLAMP Primer Mix | 2 μl |
| 10xGuHCl | 2 μl |
| 模板 DNA/RNA | 10 ng |
| ddH ₂ O Up to | 20 μl |

3. 扩增反应

置于 70°C 恒温反应 20~40min, 30s 收集一次荧光信号。

特别说明:

(1) 未知的原因, 在反应体系中加入 50 mM GuHCl, 对多数引物来讲, 可加速 LAMP 扩增 3~5min, 并提高 LAMP 检测灵敏度。但这不是绝对的, 有些引物组具有相反的效应。

(2) 该制品不具有防污染功能, 因此, 尽可能进行分区操作, 防止气溶胶污染工作环境。如需要防污染功能, 可转向 Bst dU5.0 系列产品。

(3) Bst4.2 最佳反应温度为 70 度, 在 65 度条件下反应速度会下降 25%。

(4) 该制品含有的冻干赋形剂, 在 2~2.5x 下可直接用于冻干实验。冻干实验的技术支持可来信 HaiGene 咨询。